

# 3-(ジメチルフェニル)-2-チオヒダントインアミノ酸による L-アスコルビン酸酸化抑制作用

## Studies on the Stabilizing Activity to the L-Ascorbic Acid of the 3-(Dimethylphenyl)-2-thiohydantoin Amino Acid

阿 部 捷 男

Katsuo ABE

### Summary

I have studied the stabilizing activity of 2,3-DPTH-Amino Acid, 2,4-DPTH-Amino Acid, 2,5-DPTH-Amino Acid, 2,6-DPTH-Amino Acid, 3,4-DPTH-Amino Acid and 3,5-DPTH-Amino Acid concerning autoxidation of the L-ascorbic acid and catalytic oxidation of the L-ascorbic acid by  $\text{Cu}^{2+}$ .

The experiment on the stabilizing activity to the L-ascorbic acid by the 2,3-DPTH-Amino Acid, 2,4-DPTH-Amino Acid, 2,5-DPTH-Amino Acid, 3,4-DPTH-Amino Acid and 3,5-DPTH-Amino Acid was carried out at pH 4.0, 5.0, 6.0, 7.0.

Effect of substitution group of nucleus ( $\text{N}_{(3)}$ ,  $\text{C}_{(5)}$ ) in 2,3-DPTH-Amino Acid, 2,4-DPTH-Amino Acid, 2,5-DPTH-Amino Acid, 2,6-DPTH-Amino Acid, 3,4-DPTH-Amino Acid and 3,5-DPTH-Amino Acid on its stabilizing activity to the L-ascorbic acid has been investigated. I found the following results:

a) All 2,3-DPTH-Amino Acid, 2,4-DPTH-Amino Acid, 2,5-DPTH-Amino Acid, 2,6-DPTH-Amino Acid, 3,4-DPTH-Amino Acid and 3,5-DPTH-Amino Acid inactivated the autoxidation of the L-ascorbic acid.

Sulphur atom of thiocarbonyl group of tested compounds was consumed for binding the superoxide anion radical ( $\text{O}_2^-$ ) and hydroxy radical ( $\cdot\text{OH}$ ).

b) Stabilizing activity of  $\text{N}_{(3)}$ -Substitution group was the order. 3,5-DPTH-Amino Acid > 3,4-DPTH-Amino Acid > 2,5-DPTH-Amino Acid  $\geq$  2,4-DPTH-Amino Acid  $\geq$  2,3-DPTH-Amino Acid > 2,6-DPTH-Amino Acid.  $\text{N}_{(3)}$ -Ph group and 2-thiohydantoin nucleus of 3-phenyl-2-thiohydantoin amino acid produce the plane structure.

$\text{N}_{(3)}$ -Ph group and 2-thiohydantoin nucleus of 3,4-DPTH-Amino Acid and 3,5-DPTH-Amino Acid produce the plane structure.

$\text{N}_{(3)}$ -Ph group and 2-thiohydantoin nucleus of 2,3-DPTH-Amino Acid, 2,4-DPTH-Amino Acid and 2,5-DPTH-Amino acid produce a strain.

$\text{N}_{(3)}$ -Ph group and 2-thiohydantoin nucleus of 2,6-DPTH-Amino Acid produce a large strain.

The substitution group position (2,3, 2,4, 2,5, 2,6, 3,4, 3,5) of phenyl group had influence on the stabilizing activity of L-ascorbic acid.

3,4-DPTH-Amino Acid and 3,5-DPTH-Amino Acid which has the plane structure showed the strong stabilizing activity of L-ascorbic acid.

2,3-DPTH-Amino Acid, 2,4-DPTH-Amino Acid and 2,5-DPTH-Amino acid which has the same strain showed the same stabilizing activity of L-Ascorbic acid.

2,6-DPTH-Amino Acid which has the large strain showed the weak stabilizing activity of L-ascorbic acid.

c) Stabilizing activity of  $C_{(5)}$ -substitution group was the order ; *sec*-Butyl group  $\geq$  *n*-Butyl group  $\geq$  *iso*-Butyl, *iso*-Propyl group  $\geq$  *n*-Propyl group, two Methyl group > Ethyl group > Methyl group > two Hydrogen.

Effect of electron-repelling and alkyl group structure showed the stabilizing activity of L-ascorbic acid.

d)  $N_{(3)}$ -substitution group and  $C_{(5)}$ -substitution group were united to form the stabilizing activity of L-ascorbic acid and its the most strong stabilizing activity was the order ;  $N_{(3)}$ -Ph-(3,5-dimethyl)  $C_{(5)}$ -*sec*- $C_4H_9 \geq N_{(3)}$ -Ph-(3,4-dimethyl)  $C_{(5)}$ -*sec*- $C_4H_9 \geq N_{(3)}$ -Ph-(3,5-dimethyl)  $C_{(5)}$ -*n*- $C_4H_9 \geq N_{(3)}$ -Ph-(3,5-dimethyl)  $C_{(5)}$ -*iso*- $C_4H_9 \geq N_{(3)}$ -Ph-(3,4-dimethyl)  $C_{(5)}$ -*n*- $C_4H_9 > N_{(3)}$ -Ph-(3,4-dimethyl)  $C_{(5)}$ -*iso*- $C_4H_9$ .

e)  $N_{(3)}$ -substitution group and  $C_{(5)}$ -substitution group were united to form the stabilizing activity of L-ascorbic acid and its the most weak stabilizing activity was the order ;  $N_{(3)}$ -Ph-(2,6-dimethyl)  $C_{(5)}$ -2H <  $N_{(3)}$ -Ph-(2,3-dimethyl)  $C_{(5)}$ -2H <  $N_{(3)}$ -Ph-(2,6-dimethyl)  $C_{(5)}$ -CH<sub>3</sub> <  $N_{(3)}$ -Ph-(2,4-dimethyl)  $C_{(5)}$ -2H =  $N_{(3)}$ -Ph-(2,5-dimethyl)  $C_{(5)}$ -2H

## 結 言

前報<sup>(1)(2)(3)</sup>に引き続いて、2-チオヒダントインアミノ酸化合物を用いて、L-アスコルビン酸酸化抑制試験を行なった。筆者は3-(2,3-ジメチルフェニル)-2-チオヒダントインアミノ酸 (以下2,3-DPTH-アミノ酸と略す)、3-(2,4-ジメチルフェニル)-2-チオヒダントインアミノ酸 (以下2,4-DPTH-アミノ酸と略す)、3-(2,5-ジメチルフェニル)-2-チオヒダントインアミノ酸 (以下2,5-DPTH-アミノ酸と略す)、3-(2,6-ジメチルフェニル)-2-チオヒダントインアミノ酸 (以下2,6-DPTH-アミノ酸と略す)、3-(3,4-ジメチルフェニル)-2-チオヒダントインアミノ酸 (以下3,4-DPTH-アミノ酸と略す)、3-(3,5-ジメチルフェニル)-2-チオヒダントインアミノ酸 (以下3,5-DPTH-アミノ酸と略す)について、系統的に試験を行ない、 $N_{(3)}$ 、 $C_{(5)}$ のグループと酸化抑制効果との関連性を解明しようとした。

## 実験方法

2,3-Dimethylisothiocyanate, 2,4-Dimethylisothiocyanate, 2,5-Dimethylisothiocyanate, 2,6-Dimethylisothiocyanate, 2,6-Dimethylisothiocyanate, 3,4-Dimethylisothiocyanate, 3,5-Dimethylisothiocyanate は Dains<sup>(4)</sup>の方法に準拠して合成した。

2,3-DPTH-アミノ酸, 2,4-DPTH-アミノ酸, 2,5-DPTH-アミノ酸, 2,6-DPTH-アミノ酸, 3,4-DPTH-アミノ酸, 3,5-DPTH-アミノ酸は Coghill<sup>(5)</sup>の方法に準拠して合成した。合成した化合物の確認は融点測定と IR 測定により行なった。融点は未補正である。

大部分の化合物は、カルボニル基の吸収が $1740\text{cm}^{-1}$ から $1750\text{cm}^{-1}$ に認められた。2,3-DPTH-グリ

シン, 2,3-DPTH-アラニン, 2,3-DPTH-ノルロイシンその他5種類の化合物では $1710\text{cm}^{-1}$ から $1715\text{cm}^{-1}$ に吸収が認められた。フェニル基の吸収は $1487\text{cm}^{-1}$ から $1517\text{cm}^{-1}$ に吸収が認められた。大部分の化合物のチオカルボニルグループ( $-\text{N}-\text{C}=\text{S}$ )の吸収は $1440\text{cm}^{-1}$ から $1460\text{cm}^{-1}$ ,  $1360\text{cm}^{-1}$ から $1395\text{cm}^{-1}$ ,  $955\text{cm}^{-1}$ から $995\text{cm}^{-1}$ に認められ文献<sup>(6)</sup>と一致した。

2,3-DPTH-Glycine (m.p. 208-210°C), 2,3-DPTH-DL-Alanine (m.p. 245-247°C), 2,3-DPTH-DL- $\alpha$ -Amino-*n*-butyric acid (m.p. 162-164°C), 2,3-DPTH-DL-Norvaline (m.p. 144-146°C), 2,3-DPTH-DL-Norleucine (m.p. 166-167°C), 2,3-DPTH-DL- $\alpha$ -Amino-*iso*-butyric acid (m.p. 210-212°C), 2,3-DPTH-DL-Valine (m.p. 167-168°C), 2,3-DPTH-L-Leucine (m.p. 163-164°C), 2,3-DPTH-DL-Isoleucine (m.p. 149.5-151.5°C), 2,4-DPTH-Glycine (m.p. 157.5-159.5°C), 2,4-DPTH-DL-Alanine (m.p. 164-165.5°C), 2,4-DPTH- $\alpha$ -Amino-*n*-butyric acid (m.p. 149.5-150.5°C), 2,4-DPTH-DL-Norvaline (m.p. 151.5-153°C), 2,4-DPTH-DL-Norleucine (m.p. 119-120°C), 2,4-DPTH-DL- $\alpha$ -Amino-*iso*-butyric acid (m.p. 201-202.5°C), 2,4-DPTH-DL-Valine (m.p. 173.5-175°C), 2,4-DPTH-L-Leucine (m.p. 160-161.5°C), 2,4-DPTH-DL-Isoleucine (m.p. 153-155°C), 2,5-DPTH-Glycine (m.p. 150.5-151.5°C), 2,5-DPTH-DL-Alanine (m.p. 151.5-153°C), 2,5-DPTH-DL- $\alpha$ -Amino-*n*-butyric acid (m.p. 156-157°C), 2,5-DPTH-DL-Norvaline (m.p. 145.5-147°C), 2,5-DPTH-DL-Norleucine (m.p. 101-102.5°C), 2,5-DPTH- $\alpha$ -Amino-*iso*-butyric acid (m.p. 176-178°C), 2,5-DPTH-DL-Valine (m.p. 202-204°C), 2,5-DPTH-L-Leucine (m.p. 160-162°C), 2,5-DPTH-DL-Isoleucine (m.p. 160-162°C), 2,6-DPTH-Glycine (m.p. 227-230°C), 2,6-DPTH-DL-Alanine (m.p. 202.5-204.5°C), 2,6-DPTH-DL- $\alpha$ -Amino-*n*-butyric acid (m.p. 190-191°C), 2,6-DPTH-DL-Norvaline (m.p. 182.5-184.5°C), 2,6-DPTH-DL-Norleucine (m.p. 150-151.5°C), 2,6-DPTH-DL- $\alpha$ -Amino-*iso*-butyric acid (m.p. 226-227.5°C), 2,6-DPTH-DL-Valine (m.p. 201.5-203°C), 2,6-DPTH-L-Leucine (m.p. 169.5-171.5°C), 2,6-DPTH-DL-Isoleucine (m.p. 191.5-193.5°C), 3,4-DPTH-Glycine (m.p. 200-202°C), 3,4-DPTH-DL-Alanine (m.p. 195-196.5°C), 3,4-DPTH-DL- $\alpha$ -Amino-*n*-butyric acid (m.p. 177.5-179.5°C), 3,4-DPTH-DL-Norvaline (m.p. 182-184°C), 3,4-DPTH-DL-Norleucine (m.p. 152.5-154°C), 3,4-DPTH-DL- $\alpha$ -Amino-*iso*-butyric acid (m.p. 242-244°C), 3,4-DPTH-DL-Valine (m.p. 176-177°C), 3,4-DPTH-L-Leucine (m.p. 164-166°C), 3,4-DPTH-DL-Isoleucine (m.p. 141.5-143.5°C), 3,5-DPTH-Glycine (m.p. 216-218°C), 3,5-DPTH-DL-Alanine (m.p. 228-230°C), 3,5-DPTH-DL- $\alpha$ -Amino-*n*-butyric acid (m.p. 184-186°C), 3,5-DPTH-DL-Norvaline (m.p. 205-207°C), 3,5-DPTH-DL-Norleucine (m.p. 180.5-182°C), 3,5-DPTH-DL- $\alpha$ -Amino-*iso*-butyric acid (m.p. 245-246°C), 3,5-DPTH-DL-Valine (m.p. 213.5-215°C), 3,5-DPTH-L-Leucine (m.p. 201-202.5°C), 3,5-DPTH-DL-Isoleucine (m.p. 195-197°C),.

## 2) 用いた試薬

L-Ascorbic Acid (和光純薬特級), Copper (II) Sulphate, Pentahydrate (和光純薬特級), DPTH-Amino Acid.

## 2 定 量 法

還元型L-アスコルビン酸の定量は2,6-ジクロロフェノールインドフェノールナトリウムで行なった。

## 3 試験液の調製

2,3-DPTH-アミノ酸, 2,4-DPTH-アミノ酸, 2,5-DPTH-アミノ酸, 2,6-DPTH-アミノ酸, 3,4-DPTH-アミノ酸, 3,5-DPTH-アミノ酸はエチルアルコール溶解後, 必要量を使用した。

緩衝液, 上記エチルアルコール溶液, 硫酸銅溶液, 蒸留水, L-アスコルビン酸溶液の順に調製した。反応開始時に, 試験液のpHが4.0, 5.0, 6.0, 7.0になるように緩衝液で調製した。

## 4 試験方法

試験は $37 \pm 1^\circ\text{C}$ の恒温水槽で行ない、3時間後に定量した。

Table I The stability of L-ascorbic acid by DPTH-Glycine in the presence of  $\text{Cu}^{2+}$ 

Test pH	4.0	5.0	6.0	7.0
DPTH-Glycine				
2,3-DPTH-Glycine	10.5	14.4	20.6	39.5
2,4-DPTH-Glycine	10.8	15.5	21.1	48.0
2,5-DPTH-Glycine	12.3	15.0	20.7	47.6
2,6-DPTH-Glycine	8.7	13.5	14.2	35.0
3,4-DPTH-Glycine	13.6	15.3	44.1	58.9
3,5-DPTH-Glycine	17.6	30.2	47.4	59.5
Control	7.8	7.0	5.0	6.3

Test solution component: buffer solution [pH3.8 1/15M acetate buffer, pH4.8 1/15M acetate buffer, pH5.65 1/15M phosphate buffer, pH6.65 1/15M phosphate buffer (50ml)],

DPTH-Amino Acid ( $4 \times 10^{-5}\text{mol}$ ), ethyl alcohol (10ml),  $\text{Cu}^{2+}$  ( $2 \times 10^{-5}\text{mol}$ ), distilled water (ml), L-ascorbic acid ( $1 \times 10^{-4}\text{mol}$ ), total volume (100ml).

The figures of the Table I-XVI, respectively show the per cent of the remaining L-ascorbic acid to the original L-ascorbic acid after three hours. Reaction temperature  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ .

Test solution component is the same from Table I to Table XV.

Table II The stability of L-ascorbic acid by DPTH-DL-Alanine in the presence of  $\text{Cu}^{2+}$ 

Test pH	4.0	5.0	6.0	7.0
DPTH-DL-Alanine				
2,3-DPTH-DL-Alanine	11.3	15.0	41.0	48.5
2,4-DPTH-DL-Alanine	10.7	14.6	43.5	50.8
2,5-DPTH-DL-Alanine	10.6	14.4	43.2	52.7
2,6-DPTH-DL-Alanine	11.5	14.0	31.6	38.4
3,4-DPTH-DL-Alanine	16.8	32.3	61.7	68.8
3,5-DPTH-DL-Alanine	22.9	39.6	62.5	75.5
Control	7.8	7.0	5.0	6.3

Table III The stability of L-ascorbic acid by DPTH-DL- $\alpha$ -Amino-*n*-butyric acid in the presence of  $\text{Cu}^{2+}$ 

Test pH	4.0	5.0	6.0	7.0
DPTH-DL- $\alpha$ -Amino- <i>n</i> -butyric acid				

2,3-DPTH-DL- $\alpha$ -Amino- <i>n</i> -butyric acid	18.9	24.0	61.2	60.5
2,4-DPTH-DL- $\alpha$ -Amino- <i>n</i> -butyric acid	19.5	28.5	72.5	65.7
2,5-DPTH-DL- $\alpha$ -Amino- <i>n</i> -butyric acid	21.1	27.6	72.2	68.8
2,6-DPTH-DL- $\alpha$ -Amino- <i>n</i> -butyric acid	12.9	20.4	55.3	57.4
3,4-DPTH-DL- $\alpha$ -Amino- <i>n</i> -butyric acid	21.2	50.5	77.7	70.8
3,5-DPTH-DL- $\alpha$ -Amino- <i>n</i> -butyric acid	37.2	68.2	81.1	83.9
Control	7.8	7.0	5.0	6.3

Table IV The stability of L-ascorbic acid by DPTH-DL-Norvaline in the presence of  $\text{Cu}^{2+}$ 

Test pH		4.0	5.0	6.0	7.0
DPTH-DL-Norvaline					
2,3-DPTH-DL-Norvaline		21.1	58.2	81.4	76.3
2,4-DPTH-DL-Norvaline		22.0	59.9	85.7	77.6
2,5-DPTH-DL-Norvaline		22.4	62.0	85.5	75.0
2,6-DPTH-DL-Norvaline		22.7	42.0	81.1	77.6
3,4-DPTH-DL-Norvaline		35.9	77.4	88.3	76.5
3,5-DPTH-DL-Norvaline		55.0	89.6	89.5	87.0
Control		7.8	7.0	5.0	6.3

Table V The stability of L-ascorbic acid by DPTH-DL-Norleucine in the presence of  $\text{Cu}^{2+}$ 

Test pH		4.0	5.0	6.0	7.0
DPTH-DL-Norleucine					
2,3-DPTH-DL-Norleucine		52.0	77.0	92.6	87.5
2,4-DPTH-DL-Norleucine		53.0	84.7	93.0	86.7
2,5-DPTH-DL-Norleucine		54.5	85.1	93.4	86.7
2,6-DPTH-DL-Norleucine		30.7	71.5	87.2	80.2
3,4-DPTH-DL-Norleucine		76.6	93.0	92.6	88.4
3,5-DPTH-DL-Norleucine		82.9	92.6	93.1	89.6
Control		7.8	7.0	5.0	6.3

Table VI The stability of L-ascorbic acid by DPTH-DL- $\alpha$ -Amino-*iso*-butyric acid in the presence of  $\text{Cu}^{2+}$ 

Test pH		4.0	5.0	6.0	7.0
DPTH-DL- $\alpha$ -Amino- <i>iso</i> -butyric acid					
2,3-DPTH-DL- $\alpha$ -Amino- <i>iso</i> -butyric acid		17.0	43.3	77.8	81.1
2,4-DPTH-DL- $\alpha$ -Amino- <i>iso</i> -butyric acid		18.1	42.5	78.9	82.3

2,5-DPTH-DL- $\alpha$ -Amino- <i>iso</i> -butyric acid	21.5	43.4	76.8	83.9
2,6-DPTH-DL- $\alpha$ -Amino- <i>iso</i> -butyric acid	17.0	24.0	70.6	80.2
3,4-DPTH-DL- $\alpha$ -Amino- <i>iso</i> -butyric acid	29.5	81.3	89.5	89.5
3,5-DPTH-DL- $\alpha$ -Amino- <i>iso</i> -butyric acid	51.5	90.1	91.9	90.2
Control	7.8	7.0	5.0	6.3

Table VII The stability of L-ascorbic acid by DPTH-DL-Valine in the presence of  $\text{Cu}^{2+}$ 

Test pH	4.0	5.0	6.0	7.0
DPTH-DL-Valine				
2,3-DPTH-DL-Valine	26.6	63.8	84.3	82.2
2,4-DPTH-DL-Valine	25.4	65.6	86.8	83.6
2,5-DPTH-DL-Valine	26.5	64.6	86.0	84.7
2,6-DPTH-DL-Valine	14.7	45.0	82.7	78.6
3,4-DPTH-DL-Valine	44.6	80.2	88.4	87.7
3,5-DPTH-DL-Valine	60.5	90.1	91.3	87.0
Control	7.8	7.0	5.0	6.3

Table VIII The stability of L-ascorbic acid by DPTH-L-Leucine in the presence of  $\text{Cu}^{2+}$ 

Test pH	4.0	5.0	6.0	7.0
DPTH-L-Leucine				
2,3-DPTH-L-Leucine	31.5	68.5	86.0	83.1
2,4-DPTH-L-Leucine	32.2	73.4	88.4	85.3
2,5-DPTH-L-Leucine	46.6	82.0	91.3	88.8
2,6-DPTH-L-Leucine	20.2	50.5	87.4	82.5
3,4-DPTH-L-Leucine	80.6	88.2	85.8	84.2
3,5-DPTH-L-Leucine	79.9	90.1	86.7	85.0
Control	7.8	7.0	5.0	6.3

Table IX The stability of L-ascorbic acid by DPTH-DL-Isoleucine in the presence of  $\text{Cu}^{2+}$ 

Test pH	4.0	5.0	6.0	7.0
DPTH-DL-Isoleucine				
2,3-DPTH-DL-Isoleucine	40.1	80.5	86.4	88.0
2,4-DPTH-DL-Isoleucine	51.2	85.6	92.6	89.4
2,5-DPTH-DL-Isoleucine	54.2	85.0	92.8	90.2
2,6-DPTH-DL-Isoleucine	31.5	72.0	92.1	84.1
3,4-DPTH-DL-Isoleucine	82.9	93.2	92.1	88.4

3,5-DPTH-DL-Isoleucine	84.7	93.2	92.1	88.5
Control	7.8	7.0	5.0	6.3

Table X The stability of L-ascorbic acid by 2,3-DPTH-Amino Acid in the presence of  $\text{Cu}^{2+}$ 

Test pH	4.0	5.0	6.0	7.0
2,3-DPTH-Amino Acid				
2,3-DPTH-Glycine	10.5	14.4	20.6	39.5
2,3-DPTH-DL-Alanine	11.3	15.0	41.0	48.5
2,3-DPTH-DL- $\alpha$ -Amino- <i>n</i> -butyric acid	18.9	24.0	61.2	60.5
2,3-DPTH-DL-Norvaline	21.1	58.2	81.4	76.3
2,3-DPTH-DL-Norleucine	52.0	77.0	92.6	87.5
2,3-DPTH-DL- $\alpha$ -Amino- <i>iso</i> -butyric acid	17.0	43.3	77.8	81.1
2,3-DPTH-DL-Valine	26.6	63.8	84.3	82.2
2,3-DPTH-L-Leucine	31.5	68.5	86.0	83.1
2,3-DPTH-DL-Isoleucine	40.1	80.5	86.4	88.0
Control	7.8	7.0	5.0	6.3

Table XI The stability of L-ascorbic acid by 2,4-DPTH-Amino Acid in the presence of  $\text{Cu}^{2+}$ 

Test pH	4.0	5.0	6.0	7.0
2,4-DPTH-Amino Acid				
2,4-DPTH-Glycine	10.8	15.5	21.1	48.0
2,4-DPTH-DL-Alanine	10.7	14.6	43.5	50.8
2,4-DPTH-DL- $\alpha$ -Amino- <i>n</i> -butyric acid	19.5	28.5	72.5	65.7
2,4-DPTH-DL-Norvaline	22.0	59.9	85.7	77.6
2,4-DPTH-DL-Norleucine	53.0	84.7	93.0	86.7
2,4-DPTH-DL- $\alpha$ -Amino- <i>iso</i> -butyric acid	18.1	42.5	78.9	82.3
2,4-DPTH-DL-Valine	25.4	65.6	86.8	83.6
2,4-DPTH-L-Leucine	32.2	73.4	88.4	85.3
2,4-DPTH-DL-Isoleucine	51.2	85.6	92.6	89.4
Control	7.8	7.0	5.0	6.3

Table XII The stability of L-ascorbic acid by 2,5-DPTH-Amino Acid in the presence of  $\text{Cu}^{2+}$ 

Test pH	4.0	5.0	6.0	7.0
2,5-DPTH-Amino Acid				
2,5-DPTH-Glycine	12.3	15.0	20.7	47.6
2,5-DPTH-DL-Alanine	10.6	14.4	43.2	52.7

2,5-DPTH-DL- $\alpha$ -Amino- <i>n</i> -butyric acid	21.1	27.6	72.2	68.8
2,5-DPTH-DL-Norvaline	22.4	62.0	85.5	75.0
2,5-DPTH-DL-Norleucine	54.5	85.1	93.4	86.7
2,5-DPTH-DL- $\alpha$ -Amino- <i>iso</i> -butyric acid	17.0	43.4	76.8	83.9
2,5-DPTH-DL-Valine	26.5	64.6	86.0	84.7
2,5-DPTH-L-Leucine	46.6	82.0	91.3	88.8
2,5-DPTH-DL-Isoleucine	54.2	85.0	92.8	90.2
Control	7.8	7.0	5.0	6.3

Table XIII The stability of L-ascorbic acid by 2,6-DPTH-Amino Acid in the presence of Cu<sup>2+</sup>

Test pH	4.0	5.0	6.0	7.0
2,6-DPTH-Amino Acid				
2,6-DPTH-Glycine	8.7	13.5	14.2	35.0
2,6-DPTH-DL-Alanine	11.5	14.0	31.6	38.4
2,6-DPTH-DL- $\alpha$ -Amino- <i>n</i> -butyric acid	12.9	20.4	55.3	57.4
2,6-DPTH-DL-Norvaline	22.7	42.0	81.1	76.7
2,6-DPTH-DL-Norleucine	30.7	71.5	87.2	82.2
2,6-DPTH-DL- $\alpha$ -Amino- <i>iso</i> -butyric acid	17.0	24.0	70.6	80.2
2,6-DPTH-DL-Valine	14.7	45.0	82.7	78.6
2,6-DPTH-L-Leucine	20.2	50.5	87.4	82.5
2,6-DPTH-DL-Isoleucine	31.5	72.0	92.1	84.1
Control	7.8	7.0	5.0	6.3

Table XIV The stability of L-ascorbic acid by 3,4-DPTH-Amino Acid in the presence of Cu<sup>2+</sup>

Test pH	4.0	5.0	6.0	7.0
3,4-DPTH-Amino Acid				
3,4-DPTH-Glycine	13.6	15.3	44.1	58.9
3,4-DPTH-DL-Alanine	16.8	32.3	61.7	68.8
3,4-DPTH-DL- $\alpha$ -Amino- <i>n</i> -butyric acid	21.2	50.5	77.7	70.8
3,4-DPTH-DL-Norvaline	35.9	77.4	88.3	76.5
3,4-DPTH-DL-Norleucine	76.6	93.0	92.6	88.4
3,4-DPTH-DL- $\alpha$ -Amino- <i>iso</i> -butyric acid	29.5	81.3	89.5	89.5
3,4-DPTH-DL-Valine	44.6	80.2	88.4	87.4
3,4-DPTH-L-Leucine	80.6	88.2	85.8	84.2
3,4-DPTH-DL-Isoleucine	82.9	93.2	92.1	88.4
Control	7.8	7.0	5.0	6.3



Table XV The stability of L-ascorbic acid by 3,5-DPTH-Amino Acid in the presence of  $\text{Cu}^{2+}$ 

Test pH 3,5-DPTH-Amino Acid	4.0	5.0	6.0	7.0
3,5-DPTH-Glycine	17.6	30.2	47.4	59.5
3,5-DPTH-DL-Alanine	22.9	39.6	62.5	77.5
3,5-DPTH-DL- $\alpha$ -Amino- <i>n</i> -butyric acid	37.2	68.2	81.1	83.9
3,5-DPTH-DL-Norvaline	55.0	89.6	89.5	87.0
3,5-DPTH-DL-Norleucine	82.9	92.6	93.1	89.6
3,5-DPTH-DL- $\alpha$ -Amino- <i>iso</i> -butyric acid	51.5	90.1	91.9	90.2
3,5-DPTH-DL-Valine	60.0	90.1	91.3	87.0
3,5-DPTH-L-Leucine	79.9	90.1	86.7	85.0
3,5-DPTH-DL-Isoleucine	84.7	93.2	92.1	88.5
Control	7.8	7.0	5.0	6.3

Table XVI The stability of L-ascorbic acid autoxidation by DPTH-Amino Acid

Test pH DPTH-Amino Acid	4.0	5.0	6.0	7.0
2,3-DPTH-Glycine	95.0	89.9	92.8	92.5
2,3-DPTH-DL-Alanine	94.3	92.4	92.6	92.5
2,3-DPTH-DL- $\alpha$ -Amino- <i>n</i> -butyric acid	94.8	92.1	92.7	91.8
2,3-DPTH-DL-Norvaline	95.1	93.8	93.5	92.6
2,3-DPTH-DL-Norleucine	95.5	95.3	94.0	94.0
2,3-DPTH-DL- $\alpha$ -Amino- <i>iso</i> -butyric acid	93.8	91.9	91.7	91.0
2,3-DPTH-DL-Valine	94.7	90.5	92.9	92.0
2,3-DPTH-L-Leucine	94.8	91.8	92.9	94.5
2,3-DPTH-DL-Isoleucine	95.0	93.8	94.0	94.5
2,4-DPTH-Glycine	93.4	92.7	92.5	92.5
2,4-DPTH-DL-Alanine	94.2	91.5	93.5	91.8
2,4-DPTH-DL- $\alpha$ -Amino- <i>n</i> -butyric acid	95.0	90.9	92.8	92.8
2,4-DPTH-DL-Norvaline	95.1	92.8	94.8	94.1
2,4-DPTH-DL-Norleucine	95.8	94.8	95.0	95.8
2,4-DPTH-DL- $\alpha$ -Amino- <i>iso</i> -butyric acid	94.5	92.6	91.3	90.2
2,4-DPTH-DL-Valine	93.2	92.0	92.0	91.6
2,4-DPTH-L-Leucine	93.8	91.9	92.0	91.5
2,4-DPTH-DL-Isoleucine	95.5	95.0	94.2	93.0
2,5-DPTH-Glycine	92.7	90.9	91.2	90.9
2,5-DPTH-DL-Alanine	92.8	91.8	92.0	91.5

2,5-DPTH-DL- $\alpha$ -Amino- <i>n</i> -butyric acid	94.0	92.8	92.0	91.8
2,5-DPTH-DL-Norvaline	95.1	93.6	93.0	92.5
2,5-DPTH-DL-Norleucine	96.7	95.2	96.0	94.7
2,5-DPTH-DL- $\alpha$ -Amino- <i>iso</i> -butyric acid	94.0	92.7	94.1	91.2
2,5-DPTH-DL-Valine	94.8	92.7	93.8	92.5
2,5-DPTH-L-Leucine	95.5	94.9	95.5	93.8
2,5-DPTH-DL-Isoleucine	96.0	97.0	95.9	94.0
2,6-DPTH-Glycine	92.8	91.8	90.1	90.0
2,6-DPTH-DL-Alanine	94.0	92.9	91.8	90.9
2,6-DPTH-DL- $\alpha$ -Amino- <i>n</i> -butyric acid	94.2	92.7	93.6	91.9
2,6-DPTH-DL-Norvaline	94.7	93.0	93.5	92.5
2,6-DPTH-DL-Norleucine	95.8	94.5	95.0	94.7
2,6-DPTH-DL- $\alpha$ -Amino- <i>iso</i> -butyric acid	95.5	95.0	92.7	92.8
2,6-DPTH-DL-Valine	92.9	92.8	93.0	92.8
2,6-DPTH-L-Leucine	94.0	94.0	93.9	94.0
2,6-DPTH-DL-Isoleucine	95.1	93.8	94.5	94.5
3,4-DPTH-Glycine	94.5	94.0	95.0	94.8
3,4-DPTH-DL-Alanine	95.2	94.0	93.8	92.5
3,4-DPTH-DL- $\alpha$ -Amino- <i>n</i> -butyric acid	94.9	94.0	94.8	94.0
3,4-DPTH-DL-Norvaline	93.9	93.0	93.6	93.0
3,4-DPTH-DL-Norleucine	97.0	95.0	96.2	95.5
3,4-DPTH-DL- $\alpha$ -Amino- <i>iso</i> -butyric acid	94.5	94.5	94.8	94.7
3,4-DPTH-DL-Valine	95.0	95.0	95.5	95.0
3,4-DPTH-L-Leucine	94.8	94.4	96.0	96.0
3,4-DPTH-DL-Isoleucine	97.0	95.0	95.8	95.5
3,5-DPTH-Glycine	94.3	92.8	93.0	94.0
3,5-DPTH-DL-Alanine	94.1	92.9	92.7	92.9
3,5-DPTH-DL- $\alpha$ -Amino- <i>n</i> -butyric acid	95.0	94.5	94.5	94.5
3,5-DPTH-DL-Norvaline	95.5	93.8	95.5	94.0
3,5-DPTH-DL-Norleucine	96.0	94.8	96.8	95.0
3,5-DPTH-DL- $\alpha$ -Amino- <i>iso</i> -butyric acid	93.8	93.0	94.0	93.7
3,5-DPTH-DL-Valine	94.5	93.7	94.8	94.0
3,5-DPTH-L-Leucine	97.0	95.5	96.9	94.8
3,5-DPTH-DL-Isoleucine	97.0	94.8	97.0	95.5
Control	82.9	76.5	82.9	80.5

Test solution component : buffer solution [pH3.8 1/15M acetate buffer, pH4.8 1/15M acetate buffer, pH5.65 1/15M phosphate buffer, pH6.65 1/15M phosphate buffer (50m $l$ )], DPTH-Amino acid ( $4 \times 10^{-5}$ mol), ethyl alcohol (10m $l$ ), distilled water (m $l$ ), L-ascorbic acid ( $1 \times 10^{-4}$  mol), total volume (100m $l$ ). Reaction temperature  $37 \pm 1^\circ\text{C}$

## 結 果

1 表 I より, 試験水素イオン濃度 (以下 pH と略す) が pH6.0 では 3,5-DPTH-グリシン > 3,4-DPTH-グリシン, pH7.0 では 3,5-DPTH-グリシン  $\approx$  3,4-DPTH-グリシン > 2,4-DPTH-グリシンの順に酸化抑制効果が認められた。

2 表 II より, pH6.0 では 3,5-DPTH-アラニン  $\approx$  3,4-DPTH-アラニン > 2,4-DPTH-アラニン  $\approx$  2,5-DPTH-アラニン, pH7.0 では 3,5-DPTH-アラニン > 3,4-DPTH-アラニン > 2,5-DPTH-アラニン > 2,4-DPTH-アラニンの順に酸化抑制効果が認められた。

3 表 III より, pH6.0 では 3,5-DPTH-アミノ酪酸 > 3,4-DPTH-アミノ酪酸 > 2,4-DPTH-アミノ酪酸  $\approx$  2,5-DPTH-アミノ酪酸  $\approx$  2,3-DPTH-アミノ酪酸 > 2,6-DPTH-アミノ酪酸の順に酸化抑制効果が認められた。pH7.0 では大部分の化合物は pH6.0 より酸化抑制が低下した。

4 表 IV より, pH5.0 では 3,5-DPTH-ノルバリン > 3,4-DPTH-ノルバリン > 2,5-DPTH-ノルバリン > 2,4-DPTH-ノルバリン  $\approx$  2,3-DPTH-ノルバリンの順に酸化抑制効果が認められた。pH6.0 において最も強い酸化抑制効果が認められた。

5 表 V より, pH4.0 では 3,5-DPTH-ノルロイシン > 3,4-DPTH-ノルロイシン > 2,5-DPTH-ノルロイシン  $\approx$  2,4-DPTH-ノルロイシン  $\approx$  2,3-DPTH-ノルロイシン > 2,6-DPTH-ノルロイシンの順に酸化抑制効果が認められた。3,5-DPTH-ノルロイシンは pH4.0 から pH7.0 の広い範囲に、強い酸化抑制効果が認められた。

6 表 VI より, pH5.0 では 3,5-DPTH-アミノイソ酪酸 > 3,4-DPTH-アミノイソ酪酸 > 2,5-DPTH-アミノイソ酪酸  $\approx$  2,3-DPTH-アミノイソ酪酸  $\approx$  2,4-DPTH-アミノイソ酪酸 > 2,6-DPTH-アミノイソ酪酸の順に酸化抑制効果が認められた。2,3-DPTH-アミノイソ酪酸, 2,4-DPTH-アミノイソ酪酸, 2,5-DPTH-アミノイソ酪酸は試験した同じ pH では、ほぼ同じ位の酸化抑制効果が認められた。

7 表 VII より, pH5.0 では 3,5-DPTH-バリン > 3,4-DPTH-バリン > 2,4-DPTH-バリン > 2,5-DPTH-バリン > 2,3-DPTH-バリン > 2,6-DPTH-バリンの順に酸化抑制効果が認められた。

8 表 VIII より, pH5.0 では 3,5-DPTH-ロイシン > 3,4-DPTH-ロイシン > 2,5-DPTH-ロイシン > 2,4-DPTH-ロイシン > 2,3-DPTH-ロイシンの順に酸化抑制効果が認められた。

9 表 IX より, pH4.0 では 3,5-DPTH-イソロイシン > 3,4-DPTH-イソロイシン > 2,5-DPTH-イソロイシン > 2,4-DPTH-イソロイシン > 2,3-DPTH-イソロイシン > 2,6-DPTH-イソロイシンの順に酸化抑制効果が認められた。

10 表 X より, pH5.0 では 2,3-DPTH-イソロイシン > 2,3-DPTH-ノルロイシン > 2,3-DPTH-ロイシン > 2,3-DPTH-バリン > 2,3-DPTH-ノルバリン > 2,3-DPTH-アミノイソ酪酸 > 2,3-DPTH-アミノ酪酸の順に酸化抑制効果が認められた。

11 表 XI より, pH5.0 では, 2,4-DPTH-イソロイシン > 2,4-DPTH-ノルロイシン > 2,4-DPTH-ロイシン > 2,4-DPTH-バリン > 2,4-DPTH-ノルバリン > 2,4-DPTH-アミノイソ酪酸 > 2,4-DPTH-アミノ酪酸の順に酸化抑制効果が認められた。

12 表 XII より, pH5.0 では 2,6-DPTH-イソロイシン  $\approx$  2,6-DPTH-ノルロイシン > 2,6-DPTH-ロイシン > 2,6-DPTH-バリン > 2,6-DPTH-ノルバリンの順に酸化抑制効果が認められた。

13 表 XIII より, pH5.0 では, 2,6-DPTH-イソロイシン  $\approx$  2,6-DPTH-ノルロイシン > 2,6-DPTH-ロイシン > 2,6-DPTH-バリン > 2,6-DPTH-ノルバリンの順に酸化抑制効果が認められた。2,6-DPTH-グリシン, 2,6-DPTH-アラニンの酸化抑制効果は pH4.0 から pH7.0 の範囲にわたり最

も弱かった。

14 表 XIV より, pH4.0では, 3,4-DPTH-イソロイシン>3,4-DPTH-ロイシン>3,4-DPTH-ノルロイシン>3,4-DPTH-バリリン>3,4-DPTH-ノルバリリンの順に酸化抑制効果が認められた。

15 表 XV より, pH4.0では, 3,5-DPTH-イソロイシン>3,5-DPTH-ロイシン>3,5-DPTH-ノルロイシン>3,4-DPTH-バリリン>3,4-DPTH-ノルバリリンの順に酸化抑制効果が認められた。3,5-DPTH-イソロイシン, 3,5-DPTH-ノルロイシンは試験した化合物中最も強い酸化抑制効果を示した。

16 表 XVI より, pH4.0から pH7.0の領域における L-アスコルビン酸の自動酸化に対する酸化抑制効果は試験した全ての化合物に認められた。

## 考 察

表 I から表 IX の結果により,  $N_{(3)}$ ,  $C_{(5)}$  のグループと pH が L-アスコルビン酸酸化抑制効果に大きく影響した。これは 2 位のチオカルボニル基の硫黄の電子密度は (1) pH の効果, (2)  $C_{(5)}$  の直鎖あるいは枝分れアルキル基の -I 効果 (電子供与性), (3)  $N_{(3)}$  のグループの -I 効果, (4)  $N_{(3)}$  のグループ (ジメチルフェニル基) と 2-チオヒダントイン環との相互作用等 (環と環との間で, 平面構造を生成出来るか, 歪みを生成するか, 歪みの大小はどうであるか) により色々異なってくる。試験した化合物のチオカルボニル基と接触酸化剤である  $Cu^{2+}$  との錯体の生成量と錯体の安定性は (1), (2), (3), (4) の総合されたものにより決定され, L-アスコルビン酸の酸化を抑制した。

(1) 2,3-DPTH-アミノ酸, 2,4-DPTH-アミノ酸, 2,5-DPTH-アミノ酸による L-アスコルビン酸酸化抑制作用

表 I から表 IX の結果より,  $C_{(5)}$  の置換基が同じ場合, 2,5-DPTH-アミノ酸  $\geq$  2,4-DPTH-アミノ酸  $\geq$  2,3-DPTH-アミノ酸の順に L-アスコルビン酸酸化抑制効果が認められた。

2,3-DPTH-アミノ酸, 2,4-DPTH-アミノ酸, 2,5-DPTH-アミノ酸の分子模型を組むと  $N_{(3)}$ -フェニル基の 2 位に結合しているメチル基により,  $N_{(3)}$ -フェニル基と 2-チオヒダントイン環との間に同じ大きさの歪みを生じている。この歪みの大きさが同じであるために, チオカルボニル基の硫黄の電子密度は同じ位の大きさと推定される。

この事実から  $Cu^{2+}$ -錯体生成量, 錯体の安定度も同じであると推定される。

L-アスコルビン酸酸化抑制効果の結果から考察すると  $N_{(3)}$ -フェニル基の 3 位, 4 位, 5 位のメチル基の効果は余り差が無いと考えられる。

表 X から表 XII の結果より,  $C_{(5)}$  の置換基が種々である場合, DPTH-イソロイシン  $\geq$  DPTH-ノルロイシン > DPTH-ロイシン > DPTH-バリリン > DPTH-ノルバリリン > DPTH-アミノイソ酪酸 > DPTH-アミノ酪酸 > DPTH-アラニン > DPTH-グリシンの順に L-アスコルビン酸酸化抑制効果が認められた。 $C_{(5)}$  置換基の電子供与性の強弱と  $Cu^{2+}$ -錯体生成量と生成した錯体の安定性により, このような結果になったと推定される。

(2) 3,4-DPTH-アミノ酸, 3,5-DPTH-アミノ酸による L-アスコルビン酸酸化抑制作用

表 I から表 IX の結果より,  $C_{(5)}$  の置換基が同じ場合, 3,5-DPTH-アミノ酸  $\geq$  3,4-DPTH-アミノ酸の順になり, 広い pH 領域で強い L-アスコルビン酸酸化抑制効果が認められた。3,4-DPTH-アミノ酸, 3,5-DPTH-アミノ酸の分子模型を組むと,  $N_{(3)}$ -フェニル基と 2-チオヒダントイン環が平面構造を生成し<sup>(7)</sup>, チオカルボニルと  $N_{(3)}$ -フェニル基の 2 位水素原子の間に水素結合が生成していると推定される。この為に非常に安定な平面構造を生成する。またチオカルボニル基と  $N_{(3)}$ -フェニル基の 2 位水素原子の間の水素結合のために, チオカルボニル基の電子密度は高まっている。 $Cu^{2+}$ -錯体

生成量と錯体の安定性が高まったために、L-アスコルビン酸酸化を強く抑制したものと推定される。 $N_{(3)}$ -フェニル基の4位、5位のメチル基の効果は5位メチル基の方が4位メチル基よりごくわずかに大きいように思われる。

表 XIV, 表 XV の結果より,  $C_{(5)}$  の置換基が種々である場合,  $DPTH\text{-イソロイシン} \geq DPTH\text{-ノルロイシン} > DPTH\text{-ロイシン} > DPTH\text{-バリリン} > DPTH\text{-ノルバリリン} > DPTH\text{-アミノイソ酪酸} > DPTH\text{-アラニン} > DPTH\text{-グリシン}$  の順に L-アスコルビン酸酸化抑制効果が認められた。考察(1)と同様な  $C_{(5)}$  置換基効果と推定される。

### (3) 2,6-DPTH-アミノ酸による L-アスコルビン酸酸化抑制作用

表 I から表 IX の結果により,  $C_{(5)}$  の置換基が同じ場合, 試験した化合物中, 最も L-アスコルビン酸酸化抑制作用が弱かった。2,6-DPTH-アミノ酸の分子模型を組むと  $N_{(3)}$ -フェニル基の2位と6位に結合しているメチル基により,  $N_{(3)}$ -フェニル基と2-チオヒダントイン環との間に最も大きな歪みを生じている。この歪みのため, 試験した他の化合物のチオカルボニル基の硫黄の電子密度より小さくなり,  $Cu^{2+}$ -錯体生成量が少なくなり, 錯体の安定性が低下し, 試験した化合物中 L-アスコルビン酸酸化抑制効果が最も弱かったものと推定される。

表 XIII の結果より,  $C_{(5)}$  の置換基が種々である場合,  $DPTH\text{-イソロイシン} > DPTH\text{-ノルロイシン} > DPTH\text{-ロイシン} > DPTH\text{-バリリン} > DPTH\text{-ノルバリリン} > DPTH\text{-アミノイソ酪酸} > DPTH\text{-酪酸} > DPTH\text{-アラニン} > DPTH\text{-グリシン}$  の順に L-アスコルビン酸酸化抑制効果が認められた。考察(1)と同様な  $C_{(5)}$  置換基効果と推定される。

## 要 約

筆者が試験した54種の2-チオヒダントイン化合物のL-アスコルビン酸に対する酸化抑制効果を要約すると次のごとくである。

1  $C_{(5)}$  に置換したグループでは炭素数4の場合,  $sec\text{-}C_4H_9$  グループ  $\geq n\text{-}C_4H_9$  グループ  $\geq iso\text{-}C_4H_9$  グループ, 炭素数3の場合  $iso\text{-}C_3H_7$  グループ  $\geq n\text{-}C_3H_7$  グループ,  $(CH_3)_2$  の方が炭素数2の  $C_2H_5$  グループより酸化抑制力が強く, 更に  $C_2H_5 > CH_3 > 2H$  の順であった。

2  $N_{(3)}$  に置換したグループでは 3,5-Dimethylphenyl group  $>$  3,4-Dimethylphenyl group  $>$  2,5-Dimethylphenyl group  $\geq$  2,4-Dimethylphenyl group  $\geq$  2,3-Dimethylphenyl group  $>$  2,6-Dimethylphenyl group の順になった。

2-チオヒダントイン環と  $N_{(3)}$  に置換したグループの Dimethylphenyl 環との間で平面構造を生成出来る 3,5-DPTH-アミノ酸, 3,4-DPTH-アミノ酸が酸化抑制効果が強く, 2-チオヒダントイン環と  $N_{(3)}$  に置換したグループの Dimethylphenyl 環との間で歪みの一番大きい 2,6-DPTH-アミノ酸が酸化抑制効果が弱かった。

2-チオヒダントイン環と  $N_{(3)}$  に置換したグループの Dimethylphenyl 環との間の歪みがほぼ同じ位の 2,3-DPTH-アミノ酸, 2,4-DPTH-アミノ酸, 2,5-DPTH-アミノ酸については少ししか酸化抑制効果に差が認められなかった。

3  $N_{(3)}$ ,  $C_{(5)}$  に置換したグループの総合された酸化抑制効果の最も強かったものは 3,5-DPTH-イソロイシン, 3,5-DPTH-ノルロイシン, 3,5-DPTH-ロイシン, 3,4-DPTH-イソロイシン等であり, 酸化抑制効果の最も弱い化合物は 2,6-DPTH-グリシンである。

4 自動酸化に対する酸化抑制効果は全ての化合物に認められた。

本研究に御協力頂きました当研究室卒論生, 野口妙, 渡辺倫子, 中村恵子, 松岡倫代の各氏にお

礼申し上げます。

## 文 献

- 1 阿部捷男：高知子女大 紀要, 33, 41 (1985)
- 2 阿部捷男：高知女子大 紀要, 35, 43 (1987)
- 3 阿部捷男：高知女子大 紀要, 36, 7 (1988)
- 4 F. B. DAINS, R. Q. BREWSTER, C. P. OLANDER : UNDV. KANSAS. SCI. BULL13,1. (1922)
- 5 R. D. COGHILL, T. B. JOHSON : J. A. C. S. 47, 184 (1925)
- 6 C. N. R. RAO, R. VENKATARAGHAVEAN : SPECTROCHIMICA ACTA 18, 541 (19629)
- 7 J. T. EDWARD, S. NIELSEN : J. C. S. 5075 (1957)